

Etude épidémiologique de la peste équine en Ethiopie de 1977 à 1981

par Y. LEFORBAN (*), G. Y. MABRATU, M. VIGIER, Y. FIKRE

avec la collaboration technique de B. BERHANU, A. TESSEMA, B. ZAOUDE

National Veterinary Research Institute P.O. Box 19 Debré-Zeit, Ethiopie.

(*) Adresse actuelle : Laboratoire National de l'élevage et de Recherches Vétérinaires, B.P. 2057, Dakar-Hann, République du Sénégal.

RÉSUMÉ

Une étude épidémiologique de la peste équine reposant sur des techniques virologiques et sérologiques a été effectuée en Ethiopie entre 1977 et 1981. L'isolement des souches a été fait sur souriceaux à la mamelle et sur culture de cellules Véro. La technique de séroneutralisation sur les mêmes cellules a été utilisée pour la sérotypie de ces souches. Quatorze souches virales provenant de cinq provinces distinctes ont été isolées. Treize appartiennent au type immunologique 9 et une au type 7.

Une enquête sérologique a mis en évidence la présence d'anticorps contre les huit types de virus recherchés (type 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9).

Mots clés : Peste équine — Epidémiologie — Ethiopie.

LEFORBAN (Y.), MABRATU (G. Y.), VIGIER (M.), FIKRE (Y.). Epidemiological study of african horse sickness in Ethiopia from 1977 to 1981. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1983, 36 (2) : 117-129.

Summary. — An epidemiological study of african horse sickness has been carried out in Ethiopia between 1977 and 1981 using virological and serological methods. The virological study has included virus isolation on sucking mice or tissue culture (Vero cell line), and typing. The typing of the isolated strains has employed seroneutralisation technique on Vero cell line.

Fourteen strains of virus have been isolated from five administrative regions. Among them, thirteen have been classified as type 9 and one as type 7. The serological survey using complement fixation test and seroneutralisation technique on Vero cell line has demonstrated the presence of antibodies against all the immunological types of african horse sickness virus which have been looked for. (type 8 antigen being missing was excluded).

Key words : African horse sickness — Epidemiology — Ethiopia.

INTRODUCTION — HISTORIQUE

La peste équine revêt une grande importance en Ethiopie en raison du nombre élevé de solipèdes de ce pays. Selon DREY-

FUS (12) la population totale de solipèdes en Ethiopie était estimée en 1976 à environ 5 millions de têtes, cette population étant de loin la plus importante d'Afrique comme on peut le voir sur le tableau I.

TABL. N°I-Population de solipèdes en Afrique en 1976 (en million de têtes)

Pays	Chevaux	Anes + Mules	Total
Ethiopie	1 à 1,3	3,8 à 5,05	4,8 à 6,35
Maroc	0,25	1,4	1,65
Nigeria	-	1,5	1,5
Egypte	0,05	1,1	1,15

L'estimation de la population équine varie de 1 à 1,3 million de têtes, celle de la population asine de 3 à 3,75 millions de têtes alors que celle des mules varie de 0,8 à 1,3 million de têtes.

Les régions les plus peuplées en chevaux sont le Shoa, le Sidamo et l'Arusi alors que les mules et les ânes sont plus nombreux dans les régions du nord, Erythrée et Tigré.

A l'importance numérique de la population de solipèdes, s'ajoute l'importance historique de la peste équine dans ce pays. La maladie est signalée dès le XVI^e siècle et elle a été étudiée depuis le début de ce siècle en Erythrée à Asmara. En 1569, Francisco BARO lors de son voyage en Afrique de l'Est décrit les symptômes d'une maladie des chevaux qui semblent bien être ceux de la peste équine (21).

En 1867, la maladie est signalée dans le Tigré lors de la campagne anglo-égyptienne contre l'empereur THÉODOROS (5). Elle est constatée en Erythrée en 1886 lors de la campagne d'occupation italienne.

C'est à partir de cette époque et dans cette région que commence son étude ; elle est alors dénommée par les auteurs italiens « *Tifo climatico* », alors que le terme autochtone en langue érythréenne est « *Mandef* ».

La maladie est signalée dans toutes les régions de basse et moyenne altitude vers le Soudan et la Mer Rouge (6) (21).

En 1904, une expédition française en Abyssinie rapporte avoir subi de lourdes pertes sur les chevaux et les mulets lors de leur passage dans les régions basses du pays, et signale la maladie principalement dans la plaine du Baro et dans la vallée de l'Aouache (5).

Bien que longtemps confondue avec d'autres maladies équines et en particulier avec la piroplasmose et la trypanosomose, avec lesquelles elle peut d'ailleurs coexister chez un même animal, la peste équine paraît

très ancienne dans cette région d'Afrique et son origine pourrait être aussi ancienne que celle du cheval.

Dès le début du siècle, les auteurs italiens avaient observé l'incidence saisonnière de la maladie, différente selon les régions d'Erythrée ; sur le plateau oriental, le pic d'incidence est en janvier, février, alors que sur le plateau occidental les foyers sont observés surtout en août et septembre, ceci étant lié à un cycle de pluies différent (21). Ils avaient également noté que la maladie se limitait généralement à une altitude de 1 800 mètres, mais que des conditions climatiques particulières, des pluies abondantes par exemple, pouvaient rendre cette limite caduque. Ainsi, en 1929, une grave épidémie se développa dans toute l'Erythrée, liée à de telles conditions et de nombreux cas de peste équine furent observés à Asmara situé pourtant à 2 400 mètres d'altitude, sur des chevaux n'ayant jamais quitté la ville (10).

A partir de 1935, l'Institut Zooprophyactique Expérimental d'Asmara commence l'étude expérimentale de cette maladie et entreprend la production d'un vaccin neurotrope sur cerveau de cobayes à partir de deux souches locales dénommées A et B (7, 8, 9, 23). Ce type de vaccin a été largement utilisé pour lutter contre la maladie principalement dans les régions d'Erythrée et du Tigré, jusqu'à ces dernières années et ceci avec succès.

Entre 1962 et 1968, 46 foyers de peste équine ont été déclarés à l'O.I.E. par le laboratoire d'Asmara, dont 27 foyers pour la seule année 1967 ; ces foyers sont fréquents pendant les mois de juin, juillet, août et septembre (29 foyers).

Toutes les études et rapports publiés jusque là concernent la région nord de l'Ethiopie et principalement l'Erythrée. Exception faite de quelques sérums de chevaux envoyés au laboratoire de Kabete au Kenya, et qui révèlent la présence d'anticorps contre différents types de virus (DAVIES, communication personnelle), aucune autre étude n'est faite sur la peste équine en Ethiopie jusqu'en 1976.

A cette date, une étude sérologique, faite à Dakar sur 296 sérums de chevaux provenant des régions sud de l'Ethiopie et principalement du Sidamo, révèle un pourcentage de 12,8 p. 100 de sérums positifs par la réaction de fixation du complément (12).

La présente étude effectuée au laboratoire de Debré Zeit a commencé en 1977. Elle comprend deux parties : une partie virologie consistant en l'isolement de souches de virus à partir des foyers suivi de la sérotypie de ces souches et une partie sérologie utilisant les techniques de fixation du complément et de séroneutralisation pour la recherche des anticorps dans les sérums de solipèdes.

Ces deux études font l'objet de la présente communication ; chacune d'elles sera traitée séparément et nous essaierons de tirer une conclusion générale sur l'épidémiologie de la peste équine en Ethiopie.

PREMIÈRE PARTIE

ETUDE VIROLOGIQUE : ISOLEMENT ET SÉROTYPIE DES SOUCHES DE VIRUS

I. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel et les méthodes utilisés sont ceux décrits par BOURDIN (4) et MORNET (18). Nous n'insisterons donc que sur les détails techniques qui nous sont particuliers.

1. Prélèvement

Les prélèvements adressés au laboratoire en vue de l'isolement du virus, étaient constitués essentiellement de sang et de rate. Exceptionnellement, d'autres organes ont été prélevés sur le cadavre lorsque celui-ci était en état de décomposition (os long, cerveau).

a) Sang : le sang est récolté aseptiquement par ponction veineuse à la jugulaire et mélangé à parties égales avec du milieu d'Edington ;

b) Rate : le fragment de rate prélevé aussitôt après la mort est immergé dans une solution glycinée à 50 p. 100.

2. Isolement du virus

a) Préparation des prélèvements :

— le sang est hémolysé avec de l'eau distillée, additionné d'antibiotiques (pénicilline, streptomycine), puis centrifugé. Le surnageant sert d'inoculum ;

— la rate est d'abord lavée avec du P.B.S. puis broyée avec du milieu de Stocker additionné de 2 p. 100 de sérum de veau et d'antibiotiques, et enfin centrifugée ; le surnageant constitue l'inoculum. Pour les autres organes, on procède de la même façon que pour la rate.

b) Inoculation de souriceaux à la mamelle en intracérébrale : l'âge des souriceaux varie de 4 jours à 3 semaines. Les symptômes et la mortalité dus au virus apparaissent après un temps variable (4 à 20 jours) lié à l'âge des souriceaux, à la virulence de la souche et à la richesse en virus du prélèvement. Si possible, les animaux sont sacrifiés à la période agonique et les cerveaux sont alors prélevés, sinon la récolte du cerveau est faite *post mortem*.

c) Inoculation des cultures cellulaires (lignée Véro) : les cellules Véro (lignée de rein de singe *Cercopithecus aethiops*) sont cultivées selon les méthodes habituelles en utilisant le milieu de Stocker Mac Pherson additionné de 10 p. 100 de sérum de veau pour la croissance et de 2 p. 100 pour l'entretien. L'inoculation du matériel suspect est faite sur tubes roulants de verre ou de plastique ayant un tapis cellulaire confluent, soit entre le troisième et le septième jours de culture. L'inoculum est le même que celui servant à inoculer les souriceaux. Il est utilisé pur et dilué au dixième, à raison de 0,2 ml par tube de cellule. Après une demi-heure de fixation, on ajoute le milieu d'entretien. Ce milieu est impérativement changé après 24 ou 48 heures de culture en raison de la possible cytotoxicité de l'inoculum surtout non dilué. L'effet cytopathique (ECP) se manifeste après un délai variant de 3 à 20 jours. En absence d'ECP au quinzième jour, un deuxième passage est effectué en utilisant le surnageant du premier passage plus quelques cellules obtenues par grattage à la pipette des tubes de cellules du premier passage. Le prélèvement est considéré comme négatif, si aucun ECP n'apparaît sur ce deuxième passage après 20 jours d'observation.

3. Identification et sérotypie des souches isolées

a) Sérums hyperimmuns :

Les premiers sérums hyperimmuns de type 9, ainsi que les souches neurotropes de référence, nous ont été aimablement fournis par le laboratoire de l'Élevage et de Recherches Vétérinaires de Dakar au Sénégal. Ces souches ont servi à préparer nos propres sérums hyperimmuns spécifiques correspondant à chaque type de virus (à l'exclusion du 8) en utilisant la technique décrite par HAZRATI et OZAWA, sur lapin (13), (14).

En plus des sérums hyperimmuns spécifiques des souches neurotropes de référence, ont également été préparés certains sérums spécifiques des souches sauvages récemment isolées.

b) Technique de sérotypie des souches :

Les souches de virus étant isolées directement sur cellules Véro, nous avons trouvé commode d'en identifier le type en utilisant la technique de séroneutralisation sur culture de cellules Véro également (technique à virus variable et sérum fixe dilué au demi). Ceci permet de procéder à la sérotypie du virus dès le deuxième ou troisième passage sur cellules Véro. Après neutralisation du virus une heure à 37 °C, on ensemence deux tubes de cellules par dilution de virus et par type de sérum hyperimmun. Un sérum négatif provenant de la même espèce et ayant subi le même traitement que le sérum hyperimmun est utilisé comme contrôle. L'indice de séroneutralisation est donné par la différence de titre exprimé en logarithme du virus mélangé avec le sérum négatif de contrôle et du virus mélangé avec le sérum hyperimmun. Le type viral en cause est celui correspondant au sérum hyperimmun donnant l'indice de séroneutralisation le plus élevé. Pour que le résultat soit interprétable, celui-ci doit être supérieur ou égal à 2, ce qui signifie que le sérum hyperimmun dilué au demi neutralise au moins 100 doses cytopathogènes 50 p. 100 de virus (DCP 50).

Dans la pratique, compte tenu des premiers résultats obtenus en Ethiopie, nous essayons d'abord la séroneutralisation avec le sérum hyperimmun anti type 9 de virus, et si celle-ci s'avère négative ou douteuse (indice de séro-

neutralisation inférieur ou égal à 2), nous procédons à une séroneutralisation en utilisant tous les autres sérums spécifiques de type.

II. RÉSULTATS

L'ensemble des résultats est résumé dans le tableau II.

1. Nature des prélèvements

Le tableau III indique la nature et le nombre de prélèvements reçus pour l'isolement du virus de la peste équine. Dans ce tableau, le nombre des prélèvements est supérieur au nombre d'équidés suspects, car pour certains animaux, la recherche du virus a été effectuée sur plusieurs organes.

La rate semble être l'organe de choix pour l'isolement du virus peste équine, puisque 10 prélèvements sur 12, soit 83 p. 100, se sont révélés positifs.

Le sang n'a permis l'isolement du virus que dans deux cas sur 14, soit 14 p. 100 des cas seulement. Ceci s'explique par le fait que la période virémique est brève et que, dans les conditions de la clinique, le prélèvement est souvent trop tardif pour permettre l'isolement du virus. Il est probable aussi que tous les prélèvements sanguins soumis au laboratoire pour la recherche du virus ne provenaient pas de malades chez qui le diagnostic clinique de peste équine avait été posé ; cette recherche étant souvent demandée pour des animaux présentant une symptomatologie fruste pouvant être rapportée à d'autres étiologies que la peste équine.

L'isolement du virus à partir de tous les organes d'un même cheval (7/81), permet de penser que cet animal est mort en phase virémique.

Le cas 6/80 pour lequel l'isolement du virus a été effectué à partir de la moelle osseuse et du cerveau prélevés sur le cadavre d'un cheval en décomposition, montre que le virus peut persister dans le cadavre une assez longue période après la mort ; comme dans le cas précédent, cet animal est mort en phase virémique.

TABLEAU N°II-Isolement des souches de virus peste équine entre 1977-1981

N° et année du prélèvement	Mois	Lieu	Région administrative	Espèce	Nature du prélèvement	Isolement sur cellule	Période incubation en jours	Isolement sur souriceau	Période incubation en jours	Type de virus	Indice de séro-neutralisation	Autres virus	Autres maladies
1/77	Janvier	Awasa	Sidamo	C	Rate	+	?	NE		9	3,5		
1/78	Février	Dire-Dawa	Harrarghe	C	Rate	+	15	NE		9	4		
2/78	Novembre	Makalle	Tigre	M	Rate	+	5	NE		9	≥ 3,5		
3/78	Novembre	Makalle	Tigre	M	Rate	+	12	NE		9	?		
4/78	Décembre	Makalle	Tigre	M	Rate	+	?	NE		9	≥ 3		
1/79	Juin	Jimma	Kaffa	C	Sang	+	2	NE				+	
2/79	Novembre	Nekempte	Wollega	C	Sang	-		NE					
3/79	Novembre	Makalle	Tigre	M	Rate	+	20	NE		9	3,5		
4/79	Novembre	Makalle	Tigre	M	Rate	+	12	NE		9	3,5		
1/80	Mars	Adami-Tulu	Shoa	C	Rate	-		NE					
2/80	Juin	Addis-Abéba	Shoa	C	Rate	+	3	+	15	9	≥ 3,5		
3/80	Juin	Debré-Zeit	Shoa	C	Sang	+	15	+	13	9	≥ 2,5		PIRO
4/80	Juillet	Debré-Zeit	Shoa	C	Sang	-		-					
5/80	Juillet	Jimma	Kaffa	C	Sang	-		-					
6/80	Août	Jimma	Kaffa	C	Moelle	+	13	NE		9	≥ 2,5		
					Cerveau	+	15	+	18	9	3		
7/80	Septembre	Debré-Zeit	Shoa	C	Sang	+	15	+	7	9	≥ 1,5		
					Rate	+	6	NE		9	≥ 2,5		
8/80	Septembre	Debré-Zeit	Shoa	C	Sang	-		-					
9/80	Novembre	Addis-Abéba	Shoa	C	Sang	-		-					
1/81	Janvier	Butajira	Shoa	A	Sang	-		-					PIRO
2/81	Janvier	Bar-Dar	Gojan	M	Sang	-		-					
3/81	Mars	Bar-Dar	Gojan	C	Sang	+	2	+	2			+	
4/81	Avril	Jimma	Kaffa	M	Rate	-		-					
5/81	Mai	Debre-Berhan	Shoa	C	Sang	-		-					
6/81	Novembre	Asella	Arusi	C	Sang	-		-					
7/81	Juin	Jimma	Kaffa	C	Rate	+	6	+	6	7	2,5		
					Foie	+	8	+	7				
					Ganglion	+	10	+	10				
					Surrenale	+	9	+	7				
8/81	Août	Nekempte	Wollega	C	Sang	-		-					
Total 26					Total 31	Positifs 19/31	Moyennes 10,9	Positifs 9/17	Moyennes 10,4				

Abréviations : C = cheval ; M = mule ; A = âne ; NE = non effectué ; Piro = piroplasmose à Babesia equi.
(4^e colonne, Lire : Gojam ; 8^e et 10^e colonnes, Lire « Moyenne » = période d'incubation en jours)

TABL. N°III-Recherche du virus à partir des différents organes

Organes	Nombre reçu	Nombre d'isolements de virus	Peste équine	Autres virus	Isolements négatifs
Sang	14	4	2	2	10
Rate	12	10	10	0	2
Cerveau	1	1	1	0	0
Moelle osseuse	1	1	1	0	0
Ganglion	1	1	1	0	0
Foie	1	1	1	0	0
Glande surrénale	1	1	1	0	0
Total	31	19	17	2	12

2. Répartition géographique et incidence saisonnière

La carte présentée donne une idée de la répartition géographique de la maladie à partir des isolements de virus effectués. Il faut préciser que notre objectif principal n'était pas de faire une étude épidémiologique complète, et que nous sommes très loin d'avoir recensé tous les foyers.

Elle permet cependant de constater que la maladie est largement distribuée sur plusieurs régions de basse et moyenne altitude, où elle sévit à l'état endémique.

Sous certaines conditions climatiques, elle peut également exister en altitude, puisqu'une souche (2/80) a été isolée à Addis-Abéba (2 300 mètres d'altitude) en juin 1980 sur un cheval n'ayant jamais quitté la capitale. Ceci confirme les observations des auteurs italiens à Asmara en Erythrée (10).

Le nombre limité de nos observations ne nous permet pas d'avoir une idée complète de son incidence saisonnière. La maladie semble sévir particulièrement en novembre à Makallé où le virus a été isolé à la même époque à deux années d'intervalle. Cette période correspond à la fin de la grande saison des pluies. Ceci avait déjà été observé par les auteurs italiens (24).

3. Espèces affectées

Le tableau IV donne la répartition des cas positifs et négatifs selon les espèces.

Tous les isolements ont été effectués à partir de chevaux excepté à Makallé où les cinq

TABL. N°IV-Répartition des cas positifs et négatifs selon les espèces

Espèces	Nombre d'animaux examinés	Nombre de cas positifs	Nombre de cas négatifs
Chevaux	18	7	11
Mules	7	5	2
Anes	1	0	1
Total	26	12	14

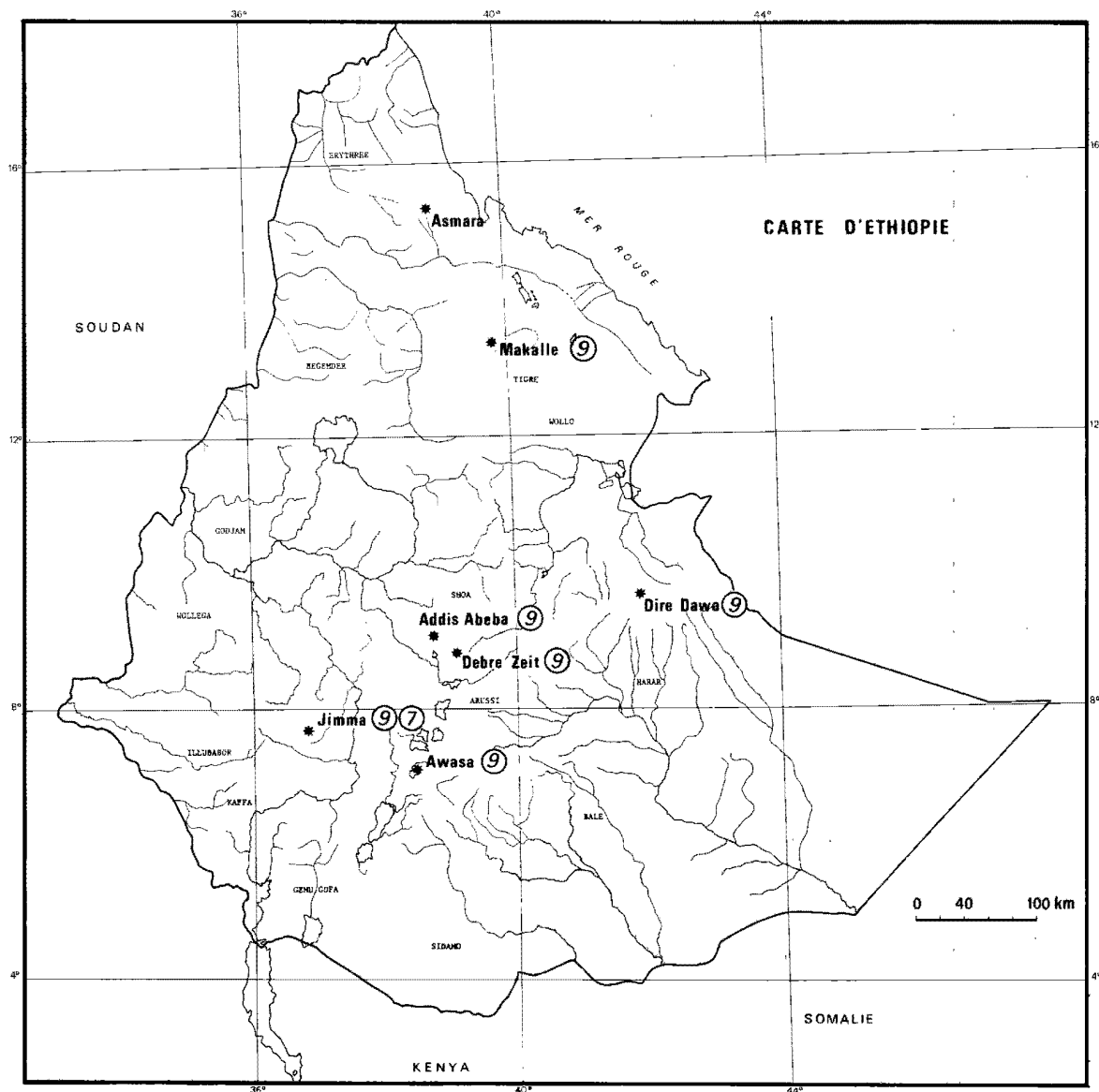
isolements de virus ont été effectués à partir de prélèvements de mules. Selon les services vétérinaires régionaux, il semble que les chevaux soient exceptionnellement atteints à Makallé, alors que les mules paient un lourd tribut à la maladie. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les mules sont utilisées pour le transport du sel depuis les zones basses des Dannakils jusqu'à Makallé et leur contamination interviendrait à l'occasion de ces transports et non à Makallé.

L'âne éthiopien semble résistant à la maladie sous sa forme clinique.

4. Valeurs comparatives des substrats d'isolement

Les prélèvements ont été inoculés soit aux souriceaux et aux cellules Véro, soit aux cellules Véro seulement (tableau II).

Quand les deux substrats ont été utilisés, ils ont toujours donné des résultats concordants : aucun virus n'a été isolé sur un substrat et non sur l'autre et de même les prélèvements négatifs l'ont été sur les deux substrats.



Les moyennes des périodes d'incubation sont similaires pour les deux substrats 10,9 jours pour les cellules et 10,4 jours pour les souriceaux, avec des extrêmes de 3 et 20 jours pour les cellules et 6 et 18 jours pour les souriceaux. Dans les conditions de notre laboratoire, les deux substrats ont donc donné des résultats similaires tant pour leur sensibilité que pour leur temps d'incubation. Il faut cependant préciser que les souriceaux utilisés étaient d'âge variable, certains pouvant avoir trois semaines, ce qui peut expliquer leur sensibilité égale à celle des cellules Véro. Quoi qu'il en soit la sensibilité des cellules est très satisfaisante et l'utilisation de celles-ci nous est apparue préférable à l'utilisation des

souriceaux, en raison de leur facilité de culture et de leur moindre coût.

5. Sérotypie des souches

Deux types de virus ont été isolés en Ethiopie : le type 9 dans 11 foyers et le type 7 dans un seul foyer en 1981.

Les deux premières souches isolées à partir des foyers d'Awasa (1/77) et Diré Dawa (1/78) ont servi à préparer des sérums hyperimmuns et les séroneutralisations effectuées avec ces sérums ont confirmé l'identité de ces souches et leur appartenance au type 9 de la classification sérologique de HOWELL (15).

(Tabl. V). A noter que les souches viscérotropes récemment isolées produisent des sérums hyperimmuns de lapin de titres homologues assez faibles. Des expériences faites ultérieurement en utilisant le même antigène viral pour l'immunisation de cobayes et de lapins nous ont montré que les titres des sérums de cobayes étaient beaucoup plus élevés que ceux des sérums de lapins. Le cobaye paraît donc préférable au lapin pour la préparation de sérums hyperimmuns dirigés contre les souches viscérotropes récemment isolées, et ceci quelle que soit l'origine de l'antigène utilisé, souris ou cellules (non publié).

La dernière souche isolée à Jimma (7/81) a été l'objet d'une étude plus approfondie puisqu'il s'agissait du premier virus de type autre que le 9 isolé en Ethiopie. Un sérum hyperimmun a été préparé contre cette souche, sur cobaye cette fois, et des séroneutralisations croisées ont été effectuées. Le résultat de celles-ci est résumé dans le tableau VI. Il apparaît que le virus Jimma (7/81) appartient bien au type 7 de HOWELL.

On voit également dans ce tableau VI que les indices de séroneutralisation obtenus avec les types hétérologues ne sont pas nuls et peuvent atteindre 1. Nous ne savons pas quelle est la signification exacte de ce phénomène. On peut envisager deux hypothèses : existence d'antigènes communs aux différents types de virus, révélés lors de la séroneutralisation sur cellules ou bien impureté des antigènes servant à préparer les sérums hyperimmuns. Dans ce dernier cas, la neutralisation partielle observée pourrait être due à des anticorps dirigés contre les cellules et qui protégeraient celles-ci d'une destruction complète par le virus. Nous pensons que les deux phénomènes peuvent intervenir mais que les anticorps dirigés contre des protéines d'origine non virale doivent jouer un rôle prédominant.

TABL. N°V-Indice de séroneutralisation des virus Awasa (1/77) et Diré-Dawa (1/78) par rapport au type 9

Sérum \ Virus	Virus Awasa (1/77)	Virus Diré-Dawa (1/78)	Virus type 9 (S2)
Sérum Awasa 1/77	3	2	NE
Sérum Diré-Dawa 1/78	2	2	NE
Sérum 9 S ₂	3,5	4	≥3,5

TABL. N°VI-Indices de séroneutralisation croisés des virus 6/80 et 7/81 par rapport aux souches de référence

Virus Sérum	6/80	7/81	1	2	3	4	5	6	7	9
7/81		4	1	1	1	0,5	1	1	3,5	1
1		1	≥3							
2		0		3,5						
3		0,5			2,5					
4		0,5				2,5				
5	0	0					3			
6	1,5	0,5						2,4		
7		2,5							2,5	
9	3	1								>3

III. CONCLUSIONS

De cette étude des souches de virus isolées en Ethiopie, on peut tirer les conclusions suivantes :

1. La maladie existe dans toutes les régions de basse et moyenne altitude du pays. Elle peut également apparaître exceptionnellement en altitude (Addis-Abéba).
2. La maladie peut revêtir des formes mortelles non seulement sur les chevaux locaux mais aussi sur les mules de certaines régions (Makallé, région du Tigré).
3. La rate est l'organe de choix pour l'isolement du virus à partir du cadavre.
4. Les cellules Véro nous sont apparues préférables aux souriceaux pour l'isolement du virus, en raison de leur bonne sensibilité et de leur facilité d'emploi.
5. Deux types sérologiques de virus, 9 et 7, ont été isolés à partir d'animaux malades ou morts ; ces deux types sont responsables de formes mortelles de la maladie. Le type 9 est largement prédominant avec 13 souches isolées alors que le type 7 n'a été mis en évidence qu'une seule fois.

DEUXIÈME PARTIE

ETUDE SÉROLOGIQUE DE LA PESTE EQUINE EN ETHIOPIE

L'existence en Ethiopie de deux types sérologiques de virus, type 9 et type 7, ayant été

démontrée, il nous a paru intéressant de rapporter le résultat des études sérologiques effectuées parallèlement à l'étude virologique.

I. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Deux techniques ont été utilisées, la fixation du complément et la séroneutralisation sur tubes de cellules Véro.

1. La fixation du complément (2), (4)

a) Antigène et sérums

Plusieurs essais ont été effectués pour la mise au point de l'antigène. Le meilleur résultat a été obtenu avec le virus neurotrope de type 9 (souche S2), inoculé aux souris adultes. Les souris sont sacrifiées à l'agonie entre le 5^e et le 7^e jour après l'inoculation. Les cerveaux sont broyés en suspension à 20 p. 100 dans un tampon borate pH 9, laissés une nuit à + 4 °C, puis centrifugés à 10 000 tours par minute pendant 10 min. Le surnageant constitue l'antigène qui est conservé congelé à - 70 °C et dilué au 1/2 ou au 1/4 au moment de l'emploi.

Les sérums sont décomplémentés à 56 °C pendant 30 min.

b) Réactions et lecture

Nous avons utilisé une technique en micro-méthode à 100 p. 100 d'hémolyse sur plaque à chaud dérivée de la technique de Kolmer. Les caractéristiques de notre méthode sont les suivantes :

— les réactifs sont utilisés sous un volume de 25 microlitres,

— utilisation de 2 unités de complément préalablement titré en présence de l'antigène ; il est à noter que nous n'avons jamais observé de pouvoir anticomplémentaire de l'antigène même utilisé au 1/2,

— temps d'incubation d'une heure et demie à l'étuve à 37 °C,

— couple hémolytique à 2 p. 100 de concentration finale de globules rouges de mouton sous un volume de 50 microlitres,

— lecture de l'hémolyse 100 p. 100, 1/2 heure après avoir ajouté le couple hémolytique.

En raison du pouvoir anticomplémentaire de nombreux sérums de chevaux, il nous est

apparu important de contrôler celui-ci jusqu'à la dilution au 1/8^e. Ne sont considérés comme positifs que les sérums ayant un titre égal ou supérieur au 1/8^e et un pouvoir anticomplémentaire ayant disparu à cette dilution.

2. Séroneutralisation sur tubes de cellules Véro. (13), (14)

a) Cellules : le système cellulaire utilisé est le même que celui déjà décrit pour l'isolement et la sérotypie du virus dans la première partie : utilisation de cellules Véro en tubes de 16 mm en verre ou en plastique.

b) Sérums : la recherche des anticorps a été faite sur des sérums d'animaux non vaccinés prélevés dans différentes régions d'Ethiopie où la maladie était suspectée. Ces sérums sont décomplémentés dans les mêmes conditions que pour la fixation du complément.

c) Virus : nous avons utilisé pour la séroneutralisation les souches de virus neurotropes de référence déjà adaptées aux cellules Véro (3 passages) fournies par le Laboratoire de Dakar. Ces souches ont subi deux passages supplémentaires à Debré-Zeit, ce qui porte le nombre total de passages à 5 ; elles sont conservées à l'état lyophilisé.

d) Méthodes de séroneutralisation : trois méthodes ont été utilisées :

1. Méthode à virus fixe et sérum variable : cette méthode consiste à faire des dilutions de sérum en progression arithmétique de raison 4 (1/4, 1/16, 1/64...), et à mélanger à chaque dilution de sérum une quantité fixe de virus (200 DCP 50 p. 100). On laisse ces mélanges 1 heure à 37 °C, puis on les inocule chacun à deux tubes de cellules à raison de 0,2 ml par tube. Sont considérés comme positifs les sérums qui ont un titre neutralisant 50 p. 100 égal ou supérieur au 1/16^e.

2. Méthode à virus variable et sérum fixe : le sérum est dilué au 1/2, alors que le virus est dilué en progression logarithmique de raison 10 comme pour la sérotypie décrite dans la première partie.

3. Méthode à virus fixe et sérum fixe ou méthode de *screening test* : elle consiste à mettre en présence le virus en quantité fixe (25 et 250 DCP 50 p. 100) avec le sérum dilué au 1/2. Après 1 heure de neutralisation à 37 °C,

chacun des deux mélanges est inoculé à 2 tubes de cellules Véro à raison de 0,2 ml par tube : 4 tubes de cellules sont donc utilisés par type et par sérum. La lecture se fait après 7 jours, et la notation se fait de la manière suivante :

— 0 tube protégé sur 4	négatif
± 1 tube protégé sur 4	douteux
+ 2 tubes protégés sur 4	positif faible
++ 3 tubes protégés sur 4	positif fort
+++ 4 tubes protégés sur 4	positif fort
++++ (autre méthode)	positif très fort

La notation ++++ signifie que le sérum dilué au 1/2 neutralise plus de 250 DCP 50 p. 100.

C'est la troisième méthode (*screening test*) que nous avons utilisée le plus souvent, les deux autres méthodes n'étant utilisées qu'occasionnellement pour un titrage plus précis des anticorps.

II. RÉSULTATS

1. Recherche des anticorps contre le type 9 de virus

Cette recherche a été effectuée par les différentes méthodes de séroneutralisation décrites plus haut. Celles-ci n'étant pas directement comparables, nous n'avons retenu dans le tableau VII que les résultats qualitatifs, sérums positifs ou négatifs, sans tenir compte du titre.

Il apparaît que des anticorps contre le type 9 de virus ont été retrouvés dans les sérums provenant de presque toutes les régions où ils ont été recherchés. Tous les prélèvements ont été effectués à partir d'animaux non vaccinés.

Ces résultats confirment ce qui avait été pressenti, lors de l'étude virologique, à savoir que le virus de type 9 doit être présent dans toutes les régions où existent des solipèdes en Ethiopie. Des anticorps ont été détectés aussi bien chez les chevaux que chez les mules et les ânes. Selon le lieu, l'espèce, l'âge, l'état immunitaire, il peut ou non révéler sa présence par une maladie clinique. Des anticorps ont été détectés chez les ânes, mais nous n'avons jamais observé la maladie dans cette espèce ; celle-ci pourrait jouer un rôle de relais pour le virus.

Toutes espèces confondues, le pourcentage de sérums positifs s'établit à 34,1 p. 100, soit environ le 1/3 des animaux étudiés.

2. Recherche des anticorps contre les différents types de virus

C'est surtout la méthode de *screening test* qui a été utilisée pour cette recherche.

Vingt sérums de chevaux ont été examinés individuellement pour rechercher la présence d'anticorps neutralisants spécifiques des différents types de virus. Dix sérums ont été

TABL. N°VII—Résultat de la recherche des anticorps neutralisants contre le type 9 de virus dans les sérums de solipèdes de différentes régions et par espèce

Région administrative	Lieu	Espèce	Nombre de sérums	Positifs	Négatifs	Pourcentage de positifs
Shoa	Addis-Abéba	Cheval	13	4	9	30,7
	Debré-Zeit	Cheval	6	3	3	50
	Debré-Berhan	Cheval	2	0	2	0
Kaffa	Jimma	Cheval	42	18	24	42,9
Wollega	Horo-Gudimu	Ane	1	1	0	100
Illubabor	Darimu	Cheval	3	1	2	33,3
	Mettu	Cheval	1	0	0	0
Wollo	Bati	Ane	19	3	16	15,8
	Bati	Cheval	3	0	3	0
	Bati	Mule	1	1	0	100
	Asiata Dubti	Cheval	12	8	4	66,6
Tigré	Makalle	Cheval	1	1	0	100
	Makalle	Mule	1	1	0	100
	Makalle	Ane	24	3	21	12,5
Total			129	44	85	34,1

prélevés à Jimma (région du Kaffa) et dix autres ont été prélevés sur les chevaux entretenus au laboratoire de Debré Zeit (région du Shoa). Ces derniers, relativement âgés provenaient en fait de différentes régions d'Ethiopie et avaient été donnés au laboratoire à l'issue de leur vie économique pour servir à la production de sérum.

N'ayant pas de virus de type 8 de référence, les anticorps n'ont été recherchés que contre les types 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 et 9.

Pour chacun des 20 sérums, nous avons également effectué un titrage en fixation du complément.

Les résultats de cette étude sont rapportés

dans le tableau VIII. Nous constatons :

1) que les sérums négatifs avec tous les types de virus en séroneutralisation sont également trouvés négatifs en fixation du complément (titre inférieur au $1/8^e$) ; c'est le cas des sérums n° 5, 9, 12, 16, 18, 19, 20, ce qui représente 7 sérums sur 20 ;

2) que la plupart des sérums positifs avec le type 9, le sont également avec le type 6 (exception pour le sérum n° 8) ;

3) lorsqu'un sérum est positif en fixation du complément, cela correspond à un sérum également très positif avec au moins l'un des types en séroneutralisation

TABL. N°VIII-Etat immunitaire individuel de 20 sérums de chevaux vis-à-vis des différents types de virus peste équine

Lieu de prélèvement	N° du sérum	Titre en FC	A type 1	A type 2	A type 3	A type 4	A type 5	A type 6	A type 7	A type 9	Nbre de types positifs par sérum
Debré-Zeit	1	1/4	±	NE	±	+	-	+	++	±	3
	2	1/16	++	±	+	-	++++	++	++	++++	6
	3	1/16	+	±	+	±	++	++	++	+++	6
	4	1/8	-	NE	-	NE	-	++	±	++	2
	5	0	-	NE	-	NE	-	-	-	-	0
	6	1/8	++	NE	+	NE	+	++	++	+++	6
	7	1/8	-	±	-	±	±	-	++	-	1
	8	1/8	-	±	-	-	±	-	±	++	1
	9	1/4	±	±	-	±	±	±	±	-	0
	10	0	-	NE	-	-	-	±	++	+	2
Jimma	11	1/64	-	NE	+	NE	++	++	±	++++	4
	12	0	-	NE	-	NE	-	-	±	-	0
	13	1/16	++	+	±	+	++	++	++	++++	7
	14	0	+	+	-	±	-	++	±	+	4
	15	1/16	++++	NE	+	NE	+	-	++	-	4
	16	1/4	-	NE	-	-	-	-	-	-	0
	17	1/4	-	NE	-	+	-	±	±	-	0
	18	1/4	-	NE	-	-	-	-	-	-	0
	19	0	-	NE	-	-	-	-	-	-	0
	20	0	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Total des sérums positifs avec chaque type		9/20	6/20	2/8	5/20	3/14	6/20	8/20	8/20	9/20	
Pourcentage de sérums positifs avec chaque type		45	30	25	25	21	30	40	40	45	

NE = recherche non effectuée ; A = anticorps.

type 5 et 9 pour le sérum n° 2 titre en FC = 1/16
 type 9 pour le sérum n° 11 titre en FC = 1/64
 type 1 pour le sérum n° 15 titre en FC = 1/16

On peut penser qu'on décèle dans ce cas des anticorps correspondant à une infection récente par ce ou ces types de virus puisque la réaction de fixation du complément ne permet de déceler que des anticorps récents.

III. DISCUSSION

Nous savons bien que cette étude sérologique, imparfaite, doit être surtout considérée comme complémentaire de l'étude virologique antérieure. En effet, le nombre des sérums pour lesquels nous avons recherché les anticorps contre tous les types est limité à 20 et pour certains de ceux-ci cette recherche a même été incomplète.

De plus, la méthode de *screening test* utilisée n'est que semi-quantitative et il est possible que des réactions sérologiques croisées entre les différents types d'anticorps puissent avoir été mises en évidence au cours de cette étude, ce qui est probablement vrai pour les titres faibles d'anticorps neutralisants, \pm et + du tableau VIII. En revanche, pour ce qui est des titres élevés, ++, +++, +++++, nous pensons que nous avons affaire dans ce cas à des anticorps spécifiques de type. Au cours de l'étude virologique, deux types de virus seulement 9 et 7 ont été mis en évidence. Cette étude sérologique complémentaire semble montrer que d'autres types de virus sont présents en Ethiopie et il est permis de penser que tous les types pourraient être présents. Ceci serait en accord avec ce qui a été observé par PARKER dans le Nord Nigéria où tous les types de virus étaient sérologiquement (19) représentés.

IV. CONCLUSION

Ces études permettent de tirer les conclusions suivantes :

1) L'étude sérologique confirme les résultats de la virologie en montrant que le type 9 de virus est largement distribué dans tout le pays puisque 34,1 p. 100 des sérums testés sont positifs avec ce type. Le virus doit donc circuler en permanence dans les populations de solipèdes en donnant très souvent des formes cliniques. Le type 7 est également retrouvé sérologiquement et doit donc également circuler mais sans doute est-il moins répandu que le type 9 et c'est la raison pour laquelle il donne moins souvent des formes cliniques.

2) L'étude sérologique nous apporte également de nouveaux renseignements épidémiologiques en révélant la présence d'anticorps contre d'autres types de virus non isolés au cours de l'étude virologique. Pour des raisons complexes tenant à la virulence des types et des souches, à l'état immunitaire ou de résistance naturelle des animaux, seuls certains types de virus donnent une maladie clinique, actuellement les types 7 et 9 en Ethiopie.

Pour ce qui est des autres types, seul l'isolement de souches de virus correspondantes à partir de malades permettra d'apporter une réponse concernant leur pouvoir pathogène pour les équidés d'Ethiopie. L'étude épidémiologique de la peste équine de ce pays doit donc être poursuivie par la multiplication des prélèvements pour isoler de nouvelles souches de ce virus. C'est ainsi que le type 7 n'a été isolé qu'au 25^e prélèvement. Peut être, comme pour le type 7, d'autres types ne sont-ils que rarement responsables de cas cliniques.

REMERCIEMENTS

Nous remercions particulièrement, tous les agents des Services Vétérinaires éthiopiens qui nous ont adressé les prélèvements objet de cette étude.

LEFORBAN (Y.), MABRATU (G. Y.), VIGIER (M.), FIKRE (Y.). Estudio epidemiológico de la peste equina en Etiopía de 1977 a 1981. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1983, **36** (2) : 117-129.

Resumen. Se efectuó un estudio epidemiológico de la peste equina mediante técnicas virológicas y serológicas entre 1977 y 1981 en Etiopía. Se aislaron cepas a partir de ratoncillos de teta, sobre cultivo de células Vero. Le técnica de

sucroneutralización sobre las mismas células fué utilizada para la serotipia de dichas cepas. Se aislaron 14 cepas virales provenientes de 5 provincias. 13 pertenecen al tipo inmunológico y una al tipo 7. Una encuesta serológica evidenció la presencia de anticuerpos contra los 8 tipos de virus buscados (tipo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9).

Palabras claves : Peste equina. Epidemiologia — Etiópia.

BIBLIOGRAPHIE

1. BENAZZATO (L.). Contributo allo studio e alla cura della « Peste equina » nel Tigris A.O.I. *Clin. vet.*, 1936, **59** (12) : 755-762.
2. BERNARD (G.). Adaptation de la microtechnique de fixation du complément au diagnostic de la peste équine. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1975, **28** (4) : 451-457.
3. BEST (J. R.), ABEGUNDE (A.), TAYLOR (W. B.). An outbreak of african horse sickness in Nigeria. *Vet. Rec.*, 1975, **7** (20) : 394.
4. BRICOUT (F.), JOUBERT (L.), HURAU (J. M.). Diagnostic séroimmunologique des viroses humaines et animales. — Paris, Maloine S.A., 1974.
5. BRUMPT (M.). La peste du cheval en Abyssinie. *C. r. hebdomadaire. Séances. Mém. Soc. Biol.*, 1904, **56** (16) : 675-677.
6. CARPANO (M.). La peste equina con particolare riguardo a quella osservata in Egitto e in Eritrea. *Clin. vet.*, **53** : 325-341, 471-484.
7. CILLI (V.). Le virus neurotrope de la peste équine. Etude de deux souches obtenues en Erythrée. *Vet. ital.*, **12** : 623-628.
8. CILLI (V.), CORAZZI (G.). Studio degli anticorpi ematici ad azione neutralizzante nel sangue di cavalli variamente vaccinati con virus neuro-mesodermotropo della peste equina. *Boll. Ist. sieroter. Milan.*, 1952, **31** : 434-447.
9. CILLI (V.), SFORZA (M.). Sopra alcune caratteristiche biologiche del virus neurotrope della peste equina. *Nuova Vet.*, 1937, **17** (16) : 208-213.
10. CÖRNACCHIA (G.). Osservazioni e considerazioni su alcune malattie infettive del bestiame in A.O.I. *Clin. vet.*, 1938, **61** (7) : 390-393.
11. CROVERI (P.). Prime constatazioni di peste equina in Somalia. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1919, **12** (8) : 485-487.
12. DREYFUS (F.). Contribution à l'étude de la zootéchnie et de la pathologie des équidés domestiques en Ethiopie. Thèse Doct. vét. Alfort 1976 n° 37.
13. HAZRATI (A.), OZAWA (Y.). Serologic studies of african horse sickness virus with emphasis on neutralisation test in tissue culture. *Can. J. comp. Med.*, 1965, **29** : 173-178.
14. HAZRATI (A.), OZAWA (Y.). Quantitative studies on the neutralisation reaction between African horse sickness virus and anti-serum. *Arch. Inst. Razi*, 1969, **21** : 25-34.
15. HOWELL (P. G.). The isolation and identification of further antigenic types of african horse sickness virus. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1962, **29** : 139-149.
16. KEMP (G. E.). Antibody in nigerian animals to african horse sickness serotype 9. *Vet. rec.*, 1974, **95** (15) : 345.
17. KEMP (G. E.), HUMBURG (J. M.), IDRISU ALHAJI. Isolation and identification of african horse sickness virus in Nigeria. *Vet. Rec.*, 1971, **89** (4) : 127-128.
18. MORNET (P.), GILBERT (Y.). La peste équine. Paris, Expansion scientifique française, 1968.
19. PARKER (J.), AMSTRONG (R. M.), ABEGUNDE (A.), TAYLOR (W. P.). African horse sickness virus antibodies in northern Nigeria 1974-1975. *Res. vet. Sci.*, 1977, **26** : 274-280.
20. PILO-MORON (E.), VINCENT (J.), SUREAU (P.). Présence du virus de la peste équine en République algérienne. Identification des souches isolées en 1965-1966. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1967, **20** (1) : 5-20.
21. PIRANI (A.). Sulla peste equina in Eritrea. *Nuova Vet.*, 1930, **8** (3) : 69-82.
22. POSTIGLIONE (E.). Il servizio veterinaria e le più gravi malattie diffusibili del bestiame nelle nostre colonie dell' Africa orientale. *Clin. vet.*, 1935, **58** (8) : 645-660.
23. SHABUROV (M. S.). Study of the abyssinian vaccine strains of african horse sickness. *Veterinariya, Moscow*, **40** (10) : 68-69.
24. TARANTINO (B.). La peste equina in Eritrea. *Clin. vet.*, 1921, **16** : 441-446.